إنتاج المزارع النقية Pure culture production

نادراً ما توجد الأحياء الدقيقة Microorganisms كنوع مفرد single species في الطبيعة اذ تختلط وتتواجد مع أنواع أخرى وتبدو عند زرعها في المختبر بشكل خليط من المستعمرات البكتيرية تسمى المزارع المختلطة mixed culture وقد تسمّى احيانا بالغشاء الحيوي biofilm عند التصاقها على سطح الاغشية والاسطح الصلبة وذلك لاكتظاظ وتلاصق الخلايا البكتيرية جنب بعضها البعض.

يصعب دراسة وتشخيص او تعريف البكتيريا عند وجودها بشكل مستعمرات مختلطة نظرا لتشابه واختلاف الانواع المختلطة في الكثير من الصفات كالشكل والتنظيم والفعاليات البايوكيميائية، على سبيل المثال هناك منات الأجناس Genus البكتيرية شكلها عصوي bacilli ولكنها تختلف فيما بينها في الكثير من الصفات الأخرى والامراض التي تسببها.

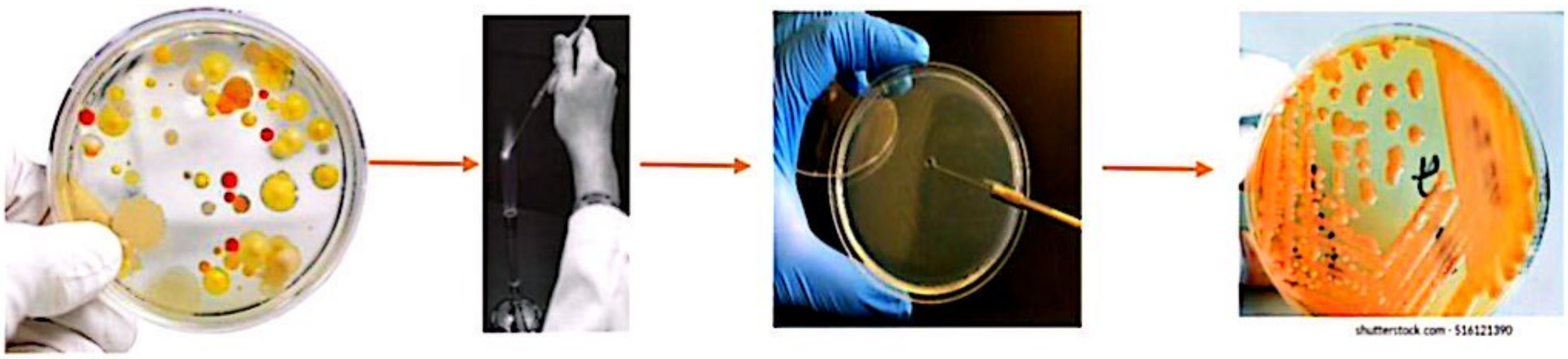
ولتسهيل دراسة نوع Species معين يجب أن يستخدم تقنيوا المختبرات laboratory technologists مزرعة نقية pure culture او مستعمرات نقية Pure colonies— أي عشيرة تتكون من نوع واحد فقط ويمكن الحصول على المزرعة النقية بعملية تسمى الزرع الثانوي Sub culturing التي تعرف بانها نقل البكتيريا من مزرعة لأخرى بهدف تنقيتها ودراسة صفاتها.

ومن الجدير بالذكر ان المستعمرة Colony تعرف بانها تجمع لعدد كبير من الخلايا البكتيرية يمكن رؤيتها بالعين المجردة ناتجة من تضاعف خلية بكتيرية مفردة.

طريقة العمل

للحصول على مزرعة نقية Pure culture نجري عملية الزرع الثانوي Sub culturing لمزرعة مختلطة Mixed cultureوكما يلي:

1- قم بتحضير اطباق بتري غير مزروعة حاوية على وسط زرعي وليكن Nutrient agar واطباق أخرى حاوية على مستعمرات مختلطة.
2- باستعمال sterile loop or needle المعقم قم بنقل جزء من المستعمرات من الطبق الحاوي على مستعمرات خليطة الشكل (A ادناه)الى طبق البتري المعقم من خلال زرعها بأحد طرق الزرع التي تم شرحها في المختبر السابق.
3- احضن الطبق الأخير في الحاضنة، بعد 24 ساعة ستحصل على طبق حاوي على مستعمرات نقية.
4- بإمكان تكرار العملية أعلاه للحصول على مستعمرات مختلفة لأنواع أخرى.
5- بإمكان اجراء الخطوات أعلاه أيضا لتنشيط او اكثار البكتيريا عندما يتطلب ذلك في تجارب أخرى ولكن الاختلاف الوحيد هو ان النقل يكون من مزرعة نقية الى طبق خالي من النمو وليس من مزرعة خليطة.



Mixed Culture

Pure Culture

س: وضح بخطوات عمل متسلسلة كيفية الحصول على مزارع نقية؟
س: وضح بخطوات عمل متسلسلة كيفية اكثار البكتيريا؟
س: وضح بخطوات عمل متسلسلة كيفية تنشيط البكتيريا؟

Scanned with CamScanner

طرق نقل وعزل البكتريا تحت ظروف معقمة

تتواجد البكتريا في الطبيعية التي تتوفر لنموها فيها البيئة المناسبة من حيث المغذيات ودرجة الحرارة والرطوبة و PH اما في المختبر فتنمى البكتريا على مواد تدعى الاوساط الزرعية والتي يجب ان توفر لها ظروف ملائمة من حيث الحرارة والتهوية الخ .

ان عمليات النقل للبكتريا هي عبارة عن نقل للبكتريا من بيئة معقمة لاخرى وهذا الامر يتطلب نظام معين يجب اتباعه لضمان اجراء عملية نقل للبكتريا دون حصول تلوث ومن أهمها

١- تجهيز جميع الأدوات والاوساط المطلوبة الضرورية لعملية النقل من موقد بنزين ، Loop، اطباق وانابيب للزرع الخ.

٢- اجراء تعليم للانابيب والاطباق المراد نقل البكتريا لها بكتابة اسم العينة وتاريخ الزرع.

٣- التخلص من الأدوات والمواد الغير ضرورة عن مكان اجراء الزرع (المنضدة) التي يمكن ان تسبب تلوث.

٤- تعديل موقد بنزين وتعقيم سطح مكان التعقيم (المنضدة).

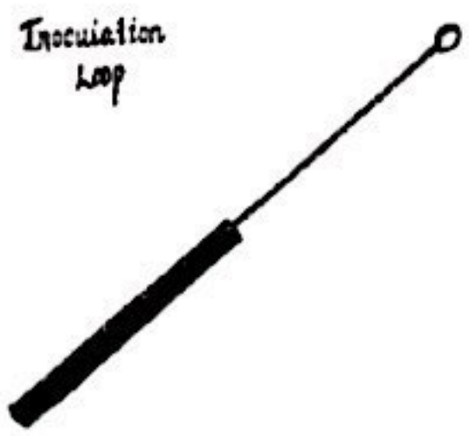
٥- تعقيم ابرة التلقيح ونقل العينة البكتيرية مع التأكد من ان كل عينة بكتيرية تم زرعها بالبيئة المناسبة لها.

٦- عند نقل العينة يجب ان يكون المحيط نظيف ومعقم ويمنع الكلام او العطاس او السعال او أي تيارات هوائية اثناء الزرع والنقل.

٧- وضع الأوساط بعد الزرع في الحاضنة وتعقيم المنضدة بعدها .

ومن اهم الأدوات المستعملة:

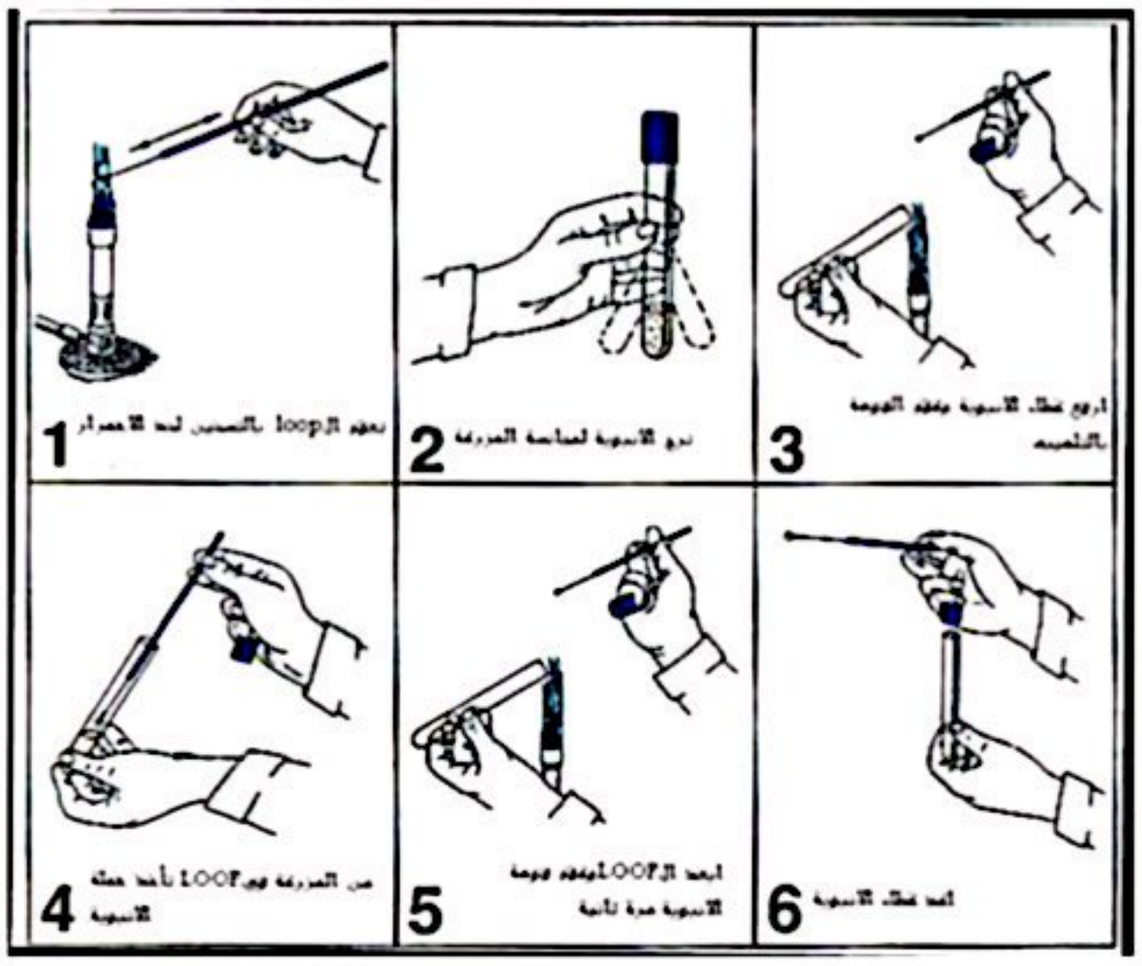
١-**loop** الاداة التي تستخدم لنقل البكتريا من مكان إلى اخر وهو عبارة عن سلك مصنوع من البلاتين أو الكروم + النيكل حيث تتميز هذ المعادن بانها تسخن بسرعة وتبرد بسرعة.



١

Scanned with CamScanner

يمكن ان تتم عمليات النقل بوساطته كما في الاشكال الموضحه ادناه



شكل رقم (١) خطوات نقل البكتريا من وسط سائل

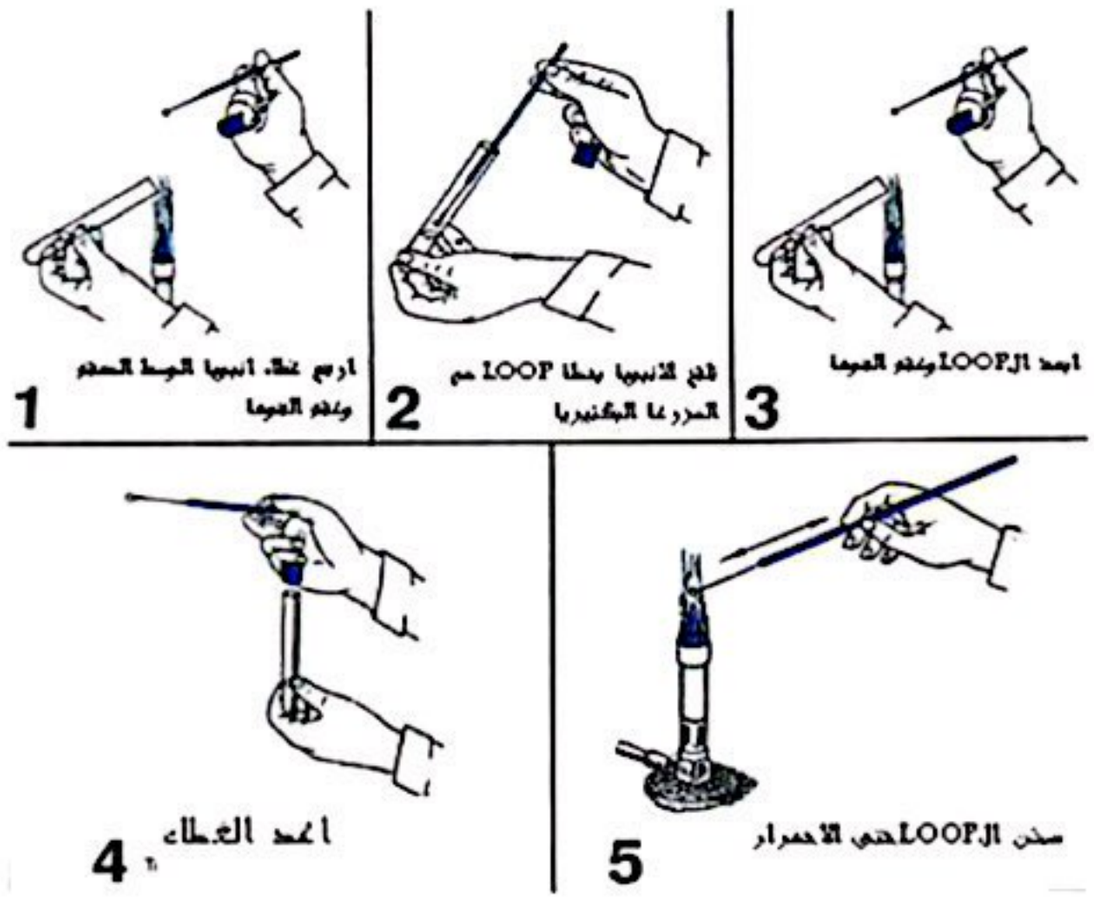
١- تعقيم loop بالتسخين لحين الاحمرار

٢-رج انبوبة الزرع السائل لمجانسته

٣-يتم رفع الغطاء وتعقيم فوهه الانبوبة

٤- نقل حملة ابرة تلقيح من لوسط السائل

٥- ابعاد loop وتعقيم فوهه الانبوبة، ٦- اعاده غطاء الانبوبة



شكل رقم (٢) خطوات تلقيح وسط سائل

Scanned with CamScanner

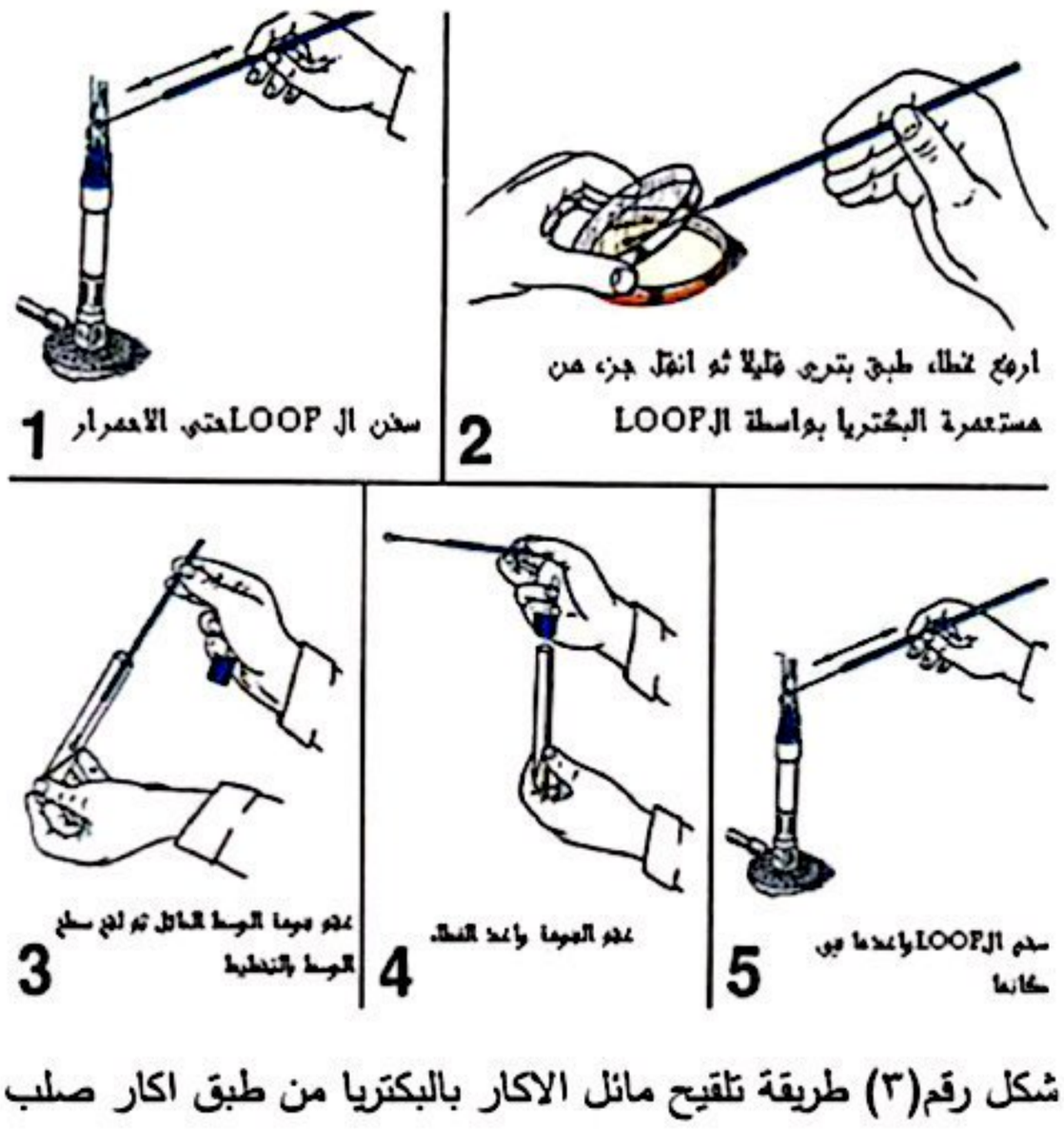
١- يتم رفع غطاء انبوبة الوسط السائل وتعقيم الفوهة

٢- تعقيم loop وتلقيح الانبوبة بوساطته

٣- ابعاد loop وتعقيم فوهه الانبوبة

٤- اعاده الغطاء

٥- تعقيم loop بالتسخين لحين الاحمرار



شكل رقم(٣) طريقة تلقيح مائل الاكار بالبكتريا من طبق اكار صلب

١- تسخين loop حتى الاحمرار

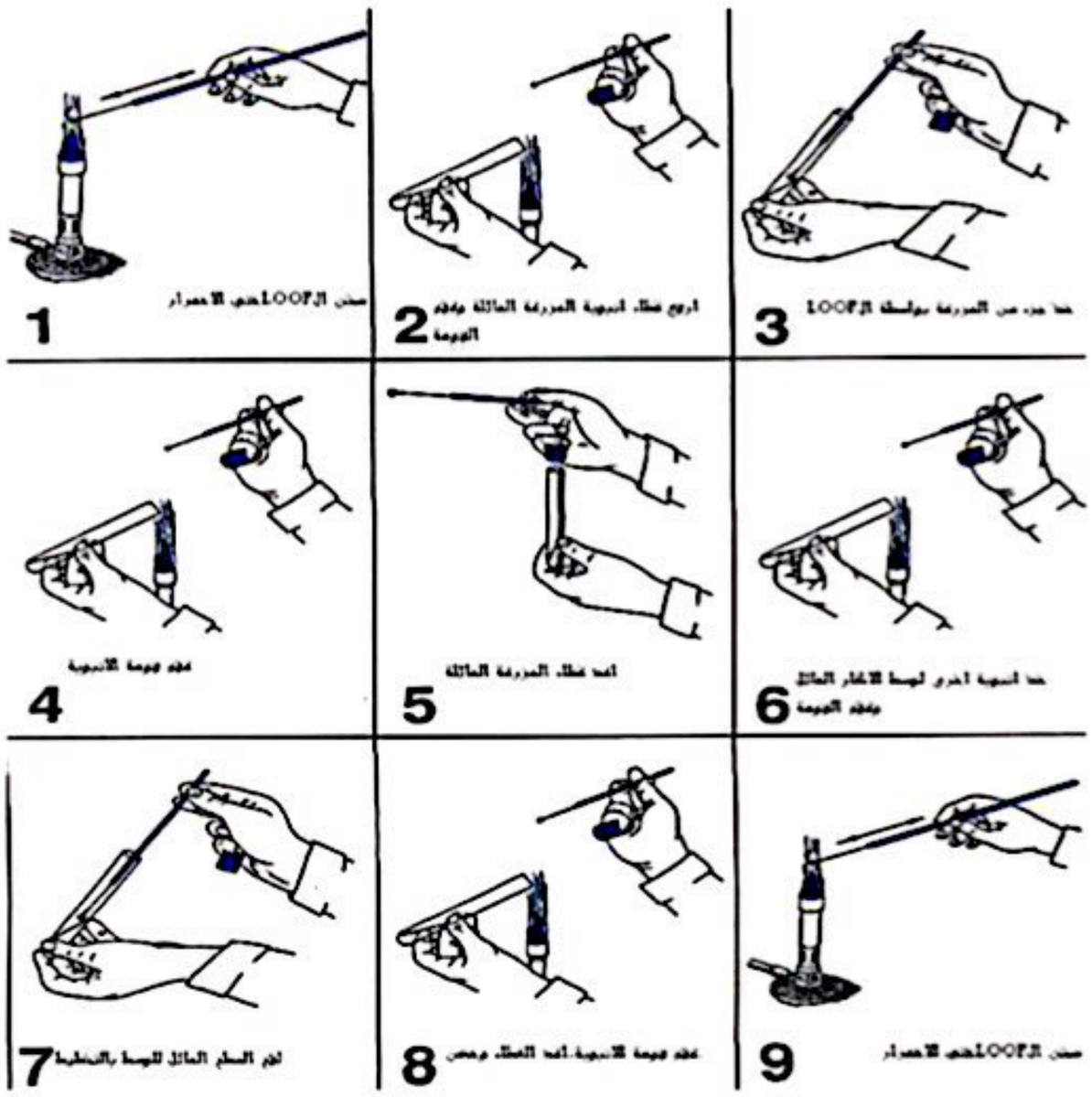
٢-رفع غطاء طبق الوسط الصلب قليلا ونقل جزء من المستعمرة البكتيرية بوساطة loop

٣- تعقيم فوهة الوسط السائل ثم يلقح سطح الوسط بالتخطيط

٤- تعقيم فوهه الانبوبة واعاده الغطاء

٥- تسخينloop واعادته الى مكانه.

Scanned with CamScanner



شكل رقم (٤) طريقة تلقيح مائل الاكار بالبكتريا من مزرعة مائلة

١- تسخين loop حتى الاحمرار

٢-رفع غطاء انبوبة المزرعة المائل الصلب وتعقيم الفوهة

٣- نقل جزء من المستعمرة البكتيرية بوساطة loop

٤- تعقيم فوهة الانبوبة

٥- إعادة غطاء المزرعة المائلة

٦- اخذ انبوبة وسط مائل أخرى وتعقيم فوهتها

٧- يلقح سطح الوسط المائل بالتخطيط

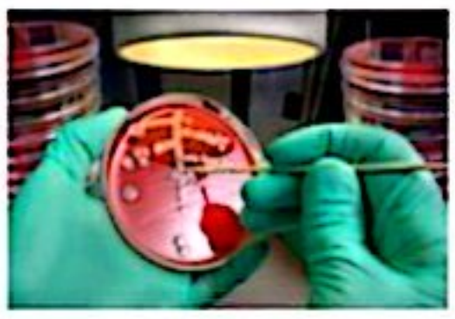
٨- تعقيم فوهة الانبوبة وإعادة الغطاء ويحضن الانبوب

٩- تسخين loop حتى الاحمرار.

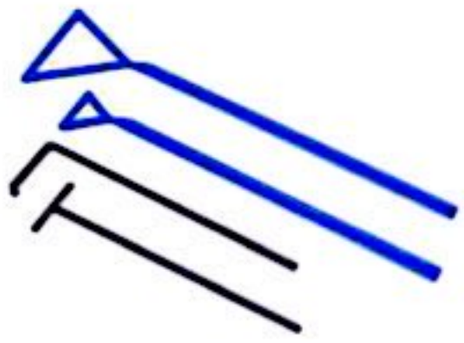
Scanned with CamScanner

٢- الماسحة القطنية Cotton swabs يمكن ان تستعمل لنقل البكتريا من وسط سائل لاخر صلب كاداه لنشر البكتريا على سطح وسط صلب او لاجراء فحص حساسية المضادات الحياتية اوتستعمل لاخذ مسحات من تجويف الفم اوالجلد او اللوزتين لزرع وتشخيص البكتريا الممرضة

٣- Toothpicks يمكن ان يستعمل لنقل المستعمرات البكتيرية المنماه على وسط صلب لاخر



٤- L-shape او Cell spreader هي أداة يدوية تستخدم في علم الأحياء والمجالات ذات الصلة لنشر الخلايا البكتيرية بسلاسة على سطح وسط زرعي صلب، يمكن أن يصنع L-shape من الزجاج أو البلاستيك أو المعدن ، وتأتي بأشكال مختلفة.



٥- الماصات Pipettes هي أداة مختبرية تستعمل لنقل أو قياس حجم سائل ما، تستعمل الأداة غالباً في مجالات الكيمياء وعلم الأحياء إضافة إلى الصناعات الدوائية والطب، تتوفر هذه الأداة بعدة قياسات كما يمكن أن تصنع من عدة مواد بلاسيكية او زجاجية.

Scanned with CamScanner